

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2017

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: APHALO

NOMBRES: Paula

Dirección Particular: Calle:

Localidad: La Plata CP: B1900ASS Tel:

*Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):
paphalo@gmail.com*

2. TEMA DE INVESTIGACION

Péptidos de amaranto con capacidad antihipertensiva: acción biológica, mecanismo de acción y su posible aplicación en alimentos.

PALABRAS CLAVE (HASTA 3) Amaranto Alimentos funcionales
Péptidos biológicamente activos

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: 01/10/2009

ACTUAL: Categoría: Asistente desde fecha: 01/06/2018

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de los Alimentos. (CIDCA)

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas- UNLP

Departamento:

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: 47 esq. 116 N°: s/n

Localidad: La Plata CP: B1900AJJ Tel: 221 425 4853

Cargo que ocupa: Investigador Asistente

5. DIRECTOR DE TRABAJOS (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: Añón María Cristina

Dirección Particular: Calle:

Localidad: CP: B1900AWZ Tel:

Dirección electrónica: mcacidca@gmail.com

¹ Art. 11; Inc. "e"; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-2016, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.

.....
Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

La prevención de la hipertensión, constituye un tema de interés para la salud pública nacional y provincial. He analizado, desde mi ingreso a CIC-PBA la posible capacidad inhibitoria sobre la enzima conversora de angiotensina (ACE) utilizando diferentes matrices proteicas. Actualmente trabajo con aislados, hidrolizados y péptidos sintéticos (VIKP y ALEP) de amaranto sobre la capacidad inhibitoria de ACE, renina y la ruta de las quimasas (vía alternativa que sintetiza un potente vasoconstrictor: angiotensina II). A corto plazo, se profundizarán los análisis de los mecanismos de acción de estos inhibidores y se realizarán estudios in vivo en un modelo de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) junto con ensayos ex vivo de vasodilatación en anillos de aorta. Se determinará la actividad de las enzimas ACE y renina en plasma de ratas mediante la utilización de técnicas inmunoquímicas. Se separarán, purificarán y sintetizarán los péptidos de mayor actividad (RP-HPLC y MALDI-TOF) de manera de analizar su comportamiento biológico in vitro y se realizarán ensayos de docking para la enzima renina

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Siguiendo con la línea de trabajo planteada en el informe anterior, los resultados obtenidos se centraron en dos líneas de trabajo principales:

- Estudios in vivo y ex vivo en ratas espontáneamente hipertensas (SHR).

Como ya se había mencionado en el informe anterior estos trabajos incluyeron no sólo el trabajo con un modelo animal midiendo la capacidad inhibitoria sobre enzimas del RAS (sistema renina-angiotensina) sino también, se realizaron medidas de vasoconstricción en anillos de aorta y concentración de ECA en plasma (como fuera presentado en el plan de trabajo del mismo informe). Como parte de un futuro trabajo en colaboración con el Dr. Rinaldi de la Facultad de Ciencias Médicas (UNLP) junto con los Dres. Suárez y Quiroga, pertenecientes al grupo de trabajo del CIDCA. No sólo se analizó el comportamiento de diferentes preparaciones proteicas, tal como fuera descrito previamente (aislados, hidrolizados y péptidos sintéticos) sino que también se evaluó el comportamiento de una emulsión o/w de aislado e hidrolizado de amaranto (cuyas condiciones de preparación y comportamiento frente a una digestión gastrointestinal simulada formaron parte de la tesis doctoral del Dr. Suarez) sin y con el agregado del péptido sintético VIKP, con probada capacidad inhibitoria in vitro de ECA. Este trabajo, nos permitirá tener una idea más completa del comportamiento de péptidos de amaranto, preparados bajo diferentes condiciones. Luego de la preparación la emulsión se congeló a -80°C, liofilizó y se re-suspendió en una proporción de 1,875 g proteína/Kg rata en agua destilada. Previo a la administración la emulsión re-suspendida se agitó durante 1 h con buzo magnético para lograr su completa homogenización. La emulsión con el péptido sintético (VIKP) se preparó siguiendo los pasos detallados previamente, con la diferencia de que inicialmente se agregó a las dispersiones el péptido VIKP en una concentración suficiente para que cada rata consuma 50 mg/kg de péptido.

Las emulsiones transportadoras de los péptidos de amaranto lograron una reducción en los valores de medida indirecta de la presión arterial, donde las diferencias encontradas no fueron significativas con respecto al aliskireno y al captopril drogas de uso comercial.

(estos resultados fueron presentados en marco de conferencias de la CIPCA VII tal como se detalla en el inciso 14 del presente informe). De esta manera, los péptidos con acción antihipertensiva lograron su pasaje a través del tracto gastrointestinal de las ratas SHR de manera intacta y sin pérdida de su actividad. Otra posibilidad pudo haber sido que durante la hidrólisis llevada adelante por las enzimas del tracto gastrointestinal los péptidos se hayan transformado en productos que siguen siendo activos. Estos péptidos, una vez ubicados en el lumen intestinal lograron atravesar los enterocitos llegando al flujo sanguíneo y de esa manera ejercer su efecto fisiológico. Junto con estos ensayos in vivo se estudio el efecto vasodilatador de las diferentes muestras en estudio en un sistema ex vivo como es la medida de la contracción de un preparado de aorta torácica (cuya metodología fuera descrita en el informe anterior). Se emplearon diferentes estímulos como ser una solución con alta concentración de potasio y norepinefrina quienes a nivel fisiológico desencadenan un aumento de la presión vascular. Las muestras tratadas con potasio que presentaron diferencias significativas frente a las ratas a las que se les administró agua ($0,44 \pm 0,02$ g/mg) fueron el aislado ($0,33 \pm 0,04$ g/mg), el hidrolizado ($0,29 \pm 0,03$ g/mg), el péptido VIKP ($0,34 \pm 0,03$ g/mg), la emulsión ($0,29 \pm 0,05$ g/mg) y la emulsión con el VIKP ($0,32 \pm 0,03$ g/mg).

El tratamiento con norepinefrina manifestó diferencias significativas entre el grupo de animales alimentado con agua ($0,44 \pm 0,02$ g/mg) y los grupos de hidrolizado ($0,29 \pm 0,03$ g/mg), el péptido VIKP ($0,34 \pm 0,03$ g/mg) y la emulsión con el péptido ($0,32 \pm 0,03$ g/mg). Tanto el captopril como el aliskireno, no presentaron diferencias significativas con respecto al control negativo, ya sea si el estímulo se haya realizado con potasio o con norepinefrina. Por lo tanto y en base a estos experimentos podríamos concluir que el efecto observado sobre la presión arterial se debió a una disminución del tono vascular y de la resistencia periférica de los vasos. Esto podría deberse a una acción inhibitoria sobre el sistema renina- angiotensina local, además del efecto de inhibición sobre la ECA circulante. Por último cabe señalar que los ensayos realizados para la cuantificación de la ECA plasmática se encuentran en realización estimándose que a la brevedad se obtendrán los resultados correspondientes.

- Estudios relacionados con el cultivar de arroz Nutriar (FCA y F)

Este trabajo aún continua en elaboración ya que fue re-diseñado incluyendo en el mismo una metodología más novedosa como ser la utilización de herramientas bioinformáticas como el docking. También se realizó una separación por HPLC y posteriormente un análisis por MALDI obteniéndose la secuencias que corresponderían a una de las fracciones con mayor capacidad de inhibición sobre las enzimas del sistema renina- angiotensina.

8. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

8.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación. Asimismo, para cada publicación deberá indicar si se encuentra depositada en el repositorio institucional CIC-Digital.*

1. In Vitro Modulation of Renin–Angiotensin System Enzymes by Amaranth (Amaranthus hypochondriacus) Protein-Derived Peptides: Alternative Mechanisms Different from ACE Inhibition

Alejandra V. Quiroga, Paula Aphalo, Agustina E. Nardo and María C. Añón
Journal of Agricultural and Food Chemistry (2017) 65: 7415-7423.

ABSTRACT: Among the factors affecting the development of cardiovascular diseases, hypertension is one of the most important. Research done on amaranth proteins has demonstrated their hypotensive capacity in vivo and in vitro; nevertheless, the mechanism underlying this effect remains unclear. The aim of this study was to analyze in vitro the inhibition of peptides derived from an amaranth hydrolysate (AHH) on other RAS enzymes other than ACE. The chymase and renin activities were studied. AHH was not able to inhibit chymase activity, although a dose-response effect was found on renin activity (IC₅₀ 0.6 mg/mL). To provide an approach to the renin inhibition mechanism, we analyzed AHH renin inhibition kinetics and performed a structural characterization of the peptides involved in the effect in terms of molecular size and hydrophobicity. Results suggest that amaranth peptides exhibit renin competitive inhibition behavior. Renin inhibition potency was directly related to peptide hydrophobicity. RP-HPLC separation of AHH and subsequent analysis of the peptide sequences showed 6 peptides belonging to 11S globulin (that can be grouped into 3 families) that would be responsible for renin inhibition. These results demonstrate that *Amaranthus hypochondriacus* seeds are an adequate source of peptides with renin inhibitory properties that could be used in functional food formulations.

Mi participación en este trabajo tuvo que ver con la discusión de los resultados y la escritura parcial del mismo.

8.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

8.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

8.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

8.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

9.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

9.2 PATENTES O EQUIVALENTES *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

9.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

9.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

9.5 *Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.*

10. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

11.1 DOCENCIA

11.2 DIVULGACIÓN

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

12. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

13. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

14. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

Evento: X Congresso Brasileiro de arroz irrigado intensificação sustentável. (CBAI 2017). Carácter de participación: expositor.

Trabajo: "Presencia de polifenoles, fitoprostanos y fitofuranos bioactivos en cultivares de arroz tipo largo fino"

Autores: Pincioli M.; Vidal A.A.; Quiroga A.V.; Domínguez Perles R.; Guy A.; Durand T.; Galano J.M.; Aphalo P.; Añón M.C. y Gil Izquierdo.

Lugar: Gramado, Brasil.
Fecha: Agosto de 2017.

Evento: VII International conference on proteins and food colloids (CIPCA VII)

Carácter de participación: expositor y presentación oral.

Trabajo: "Purificación, caracterización y secuenciación de los péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en hidrolizados de arroz de un cultivar con alto contenido proteico en grano pulido"

Autores: Pincirolí M.; Nardo A.E.; Quiroga A.V.; Aphalo P. y Añón M.C.

Lugar: CABA , Argentina.

Fecha: Mayo de 2017.

Evento: VII International conference on proteins and food colloids (CIPCA VII)

Carácter de participación: expositor

Trabajo: "Péptidos obtenidos a partir de proteínas de trigo con potencial actividad antihipertensiva"

Autores: Correa M.J.; Aphalo P. y Añón M.C.

Lugar: CABA , Argentina.

Fecha: Mayo de 2017.

Evento: VII International conference on proteins and food colloids (CIPCA VII)

Carácter de participación: expositor

Trabajo: "Estudio in vivo sobre ratas espontáneamente hipertensas (SHR) realizado a partir de diferentes preparaciones conteniendo péptidos de amaranto"

Autores: Suárez S.; Aphalo P.; Quiroga A.V.; Rinaldi G. y Añón M.C.

Lugar: CABA , Argentina.

Fecha: Mayo de 2017.

15. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

16. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

17. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO. *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

19. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA. *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

20. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Las tareas docentes desarrolladas durante el período a informar se llevan adelante en la cátedra de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP).

Me desempeño como Jefe de Trabajos Prácticos con dedicación simple dicha actividad me demanda 6 horas por semana de dictado de clase frente a alumnos. Además de

ello, dedico un total entre 2-3 horas por semana a preparación de trabajos prácticos y/o corrección de parciales.

21. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

Cabe señalar en este punto que me encuentro haciendo uso de una licencia sin goce de haberes a partir del 01/03/2018 hasta el 01/03/2019 motivo por el cual el inciso 22 no puede ser completado.

22. TITULO, PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Condiciones de la presentación:

A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:

- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 22).
- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período".
- c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.

B. Envío por correo electrónico:

- a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: ininvest@cic.gba.gob.ar (puntos 1 al 22), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
- b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

C. Sistema SIBIPA:

- a. Se deberá peticionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.